



## Alt Solunum Yolu İnfeksiyonlarında Polimeraz Zincir Reaksiyonu ile Saptanan Bakteriyel Etkenlerin Değerlendirilmesi

### Evaluation of Bacterial Factors Determined By Polymerase Chain Reaction in Lower Respiratory Tract Infections

Pınar ŞAMLIOĞLU<sup>1</sup>([iD](#)), Yeşer KARACA DERİCİ<sup>1</sup>([iD](#)), Nisel YILMAZ<sup>1</sup>([iD](#)), Sevgi HANCI<sup>1</sup>([iD](#))

<sup>1</sup> İzmir Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi, Mikrobiyoloji Laboratuvarı, İzmir, Türkiye

**Makale atfı:** Şamlıoğlu P, Karaca Derici Y, Yılmaz N, Hancı S. Alt solunum yolu infeksiyonlarında polimeraz zincir reaksiyonu ile saptanan bakteriyel etkenlerin değerlendirilmesi. FLORA 2020;25(1):28-32.

#### ÖZ

**Giriş:** Bu çalışmanın amacı, üçüncü basamak bir hastanede nazofarengeal sürüntü örneklerinde polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) yöntemiyle bakteriyel etkenlerin sıklığının belirlenmesidir.

**Materyal ve Metod:** Ocak 2017-Aralık 2017 tarihleri arasında hastanemizin çeşitli birimlerinden PCR ile bakteriyel etkenlerin saptanması amacıyla mikrobiyoloji laboratuvarına gönderilen 352 nazofarengeal sürüntü örneği geriye dönük olarak incelendi.

**Bulgular:** Toplam 352 olgunun sonucu değerlendirilmiştir. Değerlendirilen 352 olgunun 58 (%16)'inde PCR ile en az bir bakteri saptanırken, 275 (%78)'inde bakteriyel etken saptanamamıştır. Olguların 19 (%5)'unda birden fazla etken tespit edilmiştir. En sık bulunan bakteriyel etkenlerin sırasıyla 23 (%7)'ü *Streptococcus pneumoniae*, 17 (%5)'si *Haemophilus influenzae*, 6 (%2)'si *Bordetella pertussis*, 6 (%2)'si *Bordetella parapertussis*, 3 (%1)'ü *Chlamydomphila pneumoniae*, 2 (%1)'si *Mycoplasma pneumoniae*, 1 (%0.3)'i *Legionella pneumophila* idi. İkili etkenlerin ise 16 (%5)'si *S. pneumoniae* ve *H. influenzae*, 2 (%1)'si *B. pertussis* ve *C. pneumoniae*, 1 (%0.3)'i *M. pneumoniae* ve *C. pneumoniae* olarak saptanmıştır.

**Sonuç:** Alt solunum yolu infeksiyonlarında PCR ile bakteriyel etken saptanması erken tanı sağlayarak gereksiz antibiyotik kullanımını önleyecektir.

**Anahtar Kelimeler:** Nazofarengeal sürüntü; Polimeraz zincir reaksiyonu; Bakteriyel etken

## ABSTRACT

## Evaluation of Bacterial Factors Determined By Polymerase Chain Reaction in Lower Respiratory Tract Infections

Pinar ŞAMLIOĞLU<sup>1</sup>, Yeşer KARACA DERİCİ<sup>1</sup>, Nisel YILMAZ<sup>1</sup>, Sevgi HANCI<sup>1</sup><sup>1</sup> Microbiology Laboratory, Izmir Tepecik Training and Research Hospital, Izmir, Turkey**Introduction:** In this study, we aimed to determine the frequency of bacterial agents by polymerase chain reaction (PCR) method obtained from nasopharyngeal swab specimens a tertiary care hospital.**Materials and Methods:** Between January 2017 and December 2017, 352 nasopharyngeal swab specimens sent to the microbiology laboratory for detection of bacterial agents by PCR from various units of our hospital were retrospectively reviewed.**Results:** A total of 352 cases were evaluated. At least one bacterial agent was detected with PCR in 58 (16%) of the 352 cases; 275 (78%) had no bacterial agent. In 19 (5%) of the cases more than one factor was detected. The most common bacterial agents were *Streptococcus pneumoniae* in 23 (7%), *Haemophilus influenzae* in 17 (5%), *Bordetella pertussis* in 6 (2%), *Bordetella parapertussis* in 6 (2%), *Chlamydia pneumoniae* in 3 (1%), *Mycoplasma pneumoniae* in 2 (1%), and *Legionella pneumophila* in 1 (0.3%). In dual agent infections, 16 (5%) were *S. pneumoniae* and *H. influenzae*, 2 (1%) were *B. pertussis* and *C. pneumoniae* and 1 (0.3%) was *M. pneumoniae* and *C. pneumoniae*.**Conclusion:** Detection of bacterial factors by PCR in lower respiratory tract infections will prevent unnecessary antibiotic use by providing early diagnosis.**Key Words:** Nasopharyngeal swab; Polymerase chain reaction; Bacterial agent

## GİRİŞ

Pnömoni, sıklıkla bakteriler olmak üzere enfeksiyöz ya da enfeksiyöz olmayan nedenlere bağlı olarak akciğer parankiminde gelişen akut bir inflamasyondur<sup>[1]</sup>. Akut solunum yolu enfeksiyonu erişkinlerde özellikle immünyetmezlikli hastalarda ve çocuklarda önemli mortalite ve morbidite nedenleri arasındadır. Etkin antibiyoterapiler ve ileri destek tedavilerinin geliştirilmesiyle birlikte mortalite azalmakla birlikte, morbidite yüksek seyretmektedir<sup>[2]</sup>. Sağlık Bakanlığı Türkiye verilerine göre tüm yaş grupları incelendiğinde solunum sistemi hastalıkları en sık ölüm nedenleri arasında üçüncü sırada (%11.9) yer almaktadır<sup>[3]</sup>. Dünya Sağlık Örgütü 2016 verilerine göre her 1000 canlı doğumdan 1.1'i 0-27 günlükken, 5.1'i 1-59 aylıkken, 6.3'ü 0-4 yaşında alt solunum yolu enfeksiyonu (ASYİ)'nden kaybedilmektedir<sup>[4]</sup>.

Alt solunum yolu enfeksiyonu ön tanısı düşünülen hastalardan uygun bir balgam örneği alınmalı ve Gram boyama ile boyanarak mikroskopta değerlendirilmelidir. Balgam orofarengeal flora ile kontamine olabilmektedir. Bazı hastalar kültür öncesinde antibiyotik kullandıkları için kültür so-

nucunda mikroorganizma ürememektedir. Balgam örneğinin boyamasında bol polimorfonükleer lökosit (PMNL) görülmesine rağmen mikroorganizma görülmemesi ya da kültürde üreme olmaması *Mycoplasma pneumoniae*, *Chlamydia pneumoniae*, solunum yolu virüsleri ve *Legionella* türleri gibi etkenleri düşündürür. Toplum kökenli ASYİ'de rutin balgam kültürlerinin tanıda yararı düşüktür<sup>[5,6]</sup>.

Moleküler teknikler enfeksiyonların laboratuvar tanısında hassas ve hızlı teknikler olarak kabul edilmektedir. Son yıllarda solunum yolu etkenlerinin tanısında moleküler tanı yöntemleri geliştirilmiş ve DNA temelli yöntemlerin kültüre göre çok daha duyarlı oldukları gösterilmiştir. Bu yöntemlerin avantajı bir tek mikrobiyolojik örnekten birden fazla patojenin saptanabilmesidir<sup>[7]</sup>. Polimeraz zincir reaksiyonu (PCR) başta olmak üzere moleküler tanı yöntemlerinin artışı ile birlikte izole edilebilen ASYİ etken sayısı artmıştır<sup>[8]</sup>.

Bu çalışmada, hastanemiz laboratuvarına alt solunum yolu enfeksiyonu ön tanısıyla bir yıllık süre içinde gelen nazofarengeal sürüntü örneklerinde PCR ile saptanan bakteriyel etkenlerin değerlendirilmesi amaçlanmıştır.

## MATERYAL ve METOD

Sağlık Bilimleri Üniversitesi İzmir Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi Mikrobiyoloji Laboratuvarına Ocak 2017-Aralık 2017 tarihleri arasında gelen nazofarengeal sürüntü örnekleri değerlendirildi. Toplam 352 hasta örneğinin 198 (%56)'i erkek, 154 (%44)'ü kadındı. Kliniklerin dağılımına baktığımızda; 143 (%40)'ü çocuk yoğun bakım, 6 (%2)'si anestezi yoğun bakım, 3 (%1)'ü nöroloji yoğun bakım, 4 (%1)'ü dahiliye yoğun bakım, 7 (%2)'si çocuk acil, 21 (%6)'i infeksiyon hastalıkları, 168 (%48)'i çocuk kliniklerinden gelen örneklerdi. Nazofarengeal aspirat örnekleri PCR yönteminin çalışılacağı güne kadar -20°C'de saklandı. Kullanılan nazofarengeal sürüntü örneklerine multipleks PCR yöntemi uygulandı.

Üretici firma önerileri doğrultusunda Gene All Ribospin VRD manuel ekstraksiyon kiti ile 290 µL örnek ve 40 µL elüsyon hacmi kullanılarak nazofarengeal sürüntü örneklerinden nükleik asit ekstraksiyonu yapıldı. Ekstraksiyon sonrası her bir tüp için total 17 µL olacak şekilde gerçek-zamanlı PCR mastermiks hazırlandı. Vorteksleyip PCR tüplerine paylaştırıldı. Gerçek-zamanlı PCR mastermiks üzerine 8 µL her örneğe ait nükleik asitler eklendi. Santrifüj edilip cihaza yerleştirildi. Cihaz olarak CFX96™ gerçek-zamanlı PCR sistemi (Bio-Rad, US) kullanıldı.

## BULGULAR

Toplam 352 olgu sonucu değerlendirilmiştir. Değerlendirilen 352 olgunun 58 (%16)'inde PCR ile en az bir bakteri saptanırken, 275 (%78)'inde bakteriyel etken saptanamamıştır. Olguların 19 (%5)'unda birden fazla etken tespit edilmiştir. En sık bulunan bakteriyel etkenlerin sırasıyla 23 (%7)'ü *Streptococcus pneumoniae*, 17 (%5)'si *Haemophilus influenzae*, 6 (%2)'si *Bordetella pertussis*, 6 (%2)'si *Bordetella parapertussis*, 3 (%0.9)'ü *Chlamydomphila pneumoniae*, 2 (%0.6)'si *Mycoplasma pneumoniae*, 1 (%0.3)'i *Legionella pneumophila* idi. İkili etkenlerin ise 16 (%5)'si *S. pneumoniae* ve *H. influenzae*, 2 (%1)'si *B. pertussis* ve *C. pneumoniae*, 1 (%0.3)'i *M. pneumoniae* ve *C. pneumoniae* olarak saptanmıştır. Saptanan mikroorganizmalar Tablo 1'de, saptanan ikili etkenler ise Tablo 2'de gösterilmiştir.

## TARTIŞMA

Pnömoni tedavisindeki gecikmenin hem morbiditeyi hem de mortaliteyi artırdığı bilinmektedir ve ampirik tedavinin başarısı için olası patojenlerin doğru tahmin edilmesi gerekmektedir<sup>[9,10]</sup>. Bu nedenle hızlı ve güvenilir yöntemlere ihtiyaç duyulmaktadır. Son yıllarda solunum sistemi infeksiyonu etkeni birçok bakteriyel ve viral patojenin saptanması için PCR temeline dayalı nükleik asit saptama yöntemleri geliştirilmiştir. Özellikle *M. pneu-*

**Tablo 1. Alt solunum yolu örneklerinde saptanan mikroorganizmalar**

Mikroorganizma	Sayı	Yüzde
<i>Streptococcus pneumoniae</i>	23	7
<i>Haemophilus influenzae</i>	17	5
<i>Bordetella pertussis</i>	6	2
<i>Bordetella parapertussis</i>	6	2
<i>Chlamydomphila pneumoniae</i>	3	0.9
<i>Mycoplasma pneumoniae</i>	2	0.6
<i>Legionella pneumophila</i>	1	0.3

**Tablo 2. Alt solunum yolunda saptanan ikili etkenler**

Mikroorganizma	Sayı	Yüzde
<i>Streptococcus pneumoniae</i> ve <i>Haemophilus influenzae</i>	16	5
<i>Bordetella pertussis</i> ve <i>Chlamydomphila pneumoniae</i>	2	1
<i>Mycoplasma pneumoniae</i> ve <i>Chlamydomphila pneumoniae</i>	1	0.3

*moniae* gibi kültürü zor olan mikroorganizmaların tanısında PCR kullanımı önerilmektedir<sup>[11]</sup>.

Moleküler teknikler infeksiyonların laboratuvar tanısında hassas ve hızlı teknikler olarak kabul edilmektedir. Mikrobiyolojik örnekte bulunan mikroorganizma DNA'sının saptanmasına dayalı PCR yöntemi, solunum sistemi infeksiyonlarında son yıllarda araştırmaların konusu olmaya başlamıştır. Diğer yandan, infeksiyonlar birden fazla patojene bağlı olabilmekte ve bu nedenle ciddi infeksiyonlarda kısa sürede aynı anda bu patojenlerin tespit edilmesine gerek duyulabilmektedir. PCR ile tek mikrobiyolojik örnekten aynı anda birden fazla sayıda patojen belirlenebilir<sup>[7,9]</sup>. Bu yöntemler ayrıca antibiyotik tedavisi altındaki olgularda etkenin tanımlanmasını sağlayabilmektedir<sup>[10]</sup>.

*L. pneumophila*'nın dünyada toplum kökenli pnömoniye neden olan en yaygın atipik patojenlerden biri olduğu bildirilmiştir, ancak *L. pneumophila*'ya bağlı toplum kökenli pnömoni sıklığı, Asya topluluklarında nispeten düşük bulunmuştur<sup>[12,13]</sup>. Çalışmamızda 1 (%0.3) hastada *L. pneumophila* saptanmıştır.

Boğmaca, öksürük ile seyreden *B. pertussis*'in neden olduğu akut bakteriyel bir infeksiyondur. Daha az sıklıkta *B. parapertussis* etken olabilir. Tüm dünyada görülür ve tüm yaş gruplarını etkiler fakat bebeklerde ve çocuklarda hastalık ciddi seyredebilir. Yetersiz tanı ve olguların düzgün bildirilmesi nedeniyle insidans oranları ülkeler ve bölgeler arasında büyük ölçüde değişmektedir. Nazofarenks sıvısı veya indüklenmiş balgam örneklerine uygulanan PCR ile hızlı tanı sağlanabilmektedir<sup>[14]</sup>. Bu çalışmada örneklerin 6 (%2)'sı *B. pertussis*, 6 (%2)'sı *B. parapertussis* olarak tespit edilmiştir.

Kurutepe ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada moleküler yöntem (M-PCR/RLBH) ile araştırılan 128 toplum kökenli pnömoni olgusunun 53 (%41.4)'ünde *S. pneumoniae*, *H. influenzae*, *Moraxella catarrhalis*, *C. pneumoniae*, *L. pneumophila* ve *M. pneumoniae* saptanmıştır. En sık saptanan etken *S. pneumoniae* (%25), en sık saptanan atipik etken *M. pneumoniae* (%7) olmuştur<sup>[15]</sup>.

Templeton ve arkadaşları gerçek-zamanlı PCR ile 105 hasta içinde bir tane *L. pneumophila*, üç tane *Legionella* türleri, iki tane *C. pneumoniae* ve beş tane *M. pneumoniae* bulduklarını bildirmişlerdir<sup>[16]</sup>.

Bizim çalışmamızda en sık bulunan bakteriyel etkenler; 23 (%7) tane *S. pneumoniae*, 17 (%5) tane *H. influenzae*, 6 (%2) tane *B. pertussis*, 1 (%0.3) tane *L. pneumophila*, 3 (%1) tane *C. pneumoniae*, 2 (%1) tane *M. pneumoniae*'dir.

Akın ve arkadaşlarının yaptıkları çalışmada 62 kronik obstrüktif akciğer hastalığı olan hastanın 47 (%75.8)'inde patojen bakteri (33 *S. pneumoniae*, 22 *M. catarrhalis*, 11 *H. influenzae*) bulunmuştur. Otuz örnekte tek, 15 örnekte iki, iki örnekte ise üç bakteri eş zamanlı saptanmıştır<sup>[17]</sup>.

Multipleks PCR'nin daha duyarlı olmasının yanı sıra hızlı ve doğru sonuç vermesi de klinik ve epidemiyolojik açıdan önem taşımaktadır. Hızlı sonuç; gereksiz antibiyotik kullanımını önlemek, gerektiğinde nozokomiyal bulaşı engellemek için damlacık izolasyon önlemlerini almak, tanı koymak için ileri ve gereksiz tetkikleri yapmamak, saptanan mikroorganizma ile ilgili bilgileri vermek halk sağlığı açısından son derece önemlidir<sup>[18,19]</sup>.

#### ÇIKAR ÇATIŞMASI

Yazarlar bu makale ile ilgili herhangi bir çıkar çatışması bildirmemişlerdir.

#### YAZAR KATKISI

Anafikir/Planlama: PŞ

Analiz/Yorum: PŞ, YKD

Veri sağlama: PŞ

Yazım: PŞ

Gözden Geçirme ve Düzeltme: PŞ, YKD, SH, NY

Onaylama: PŞ, NY

#### KAYNAKLAR

1. Kocabaş E. Çocukluk çağında bakteriyel pnömoniler. AN-KEM Dergisi 2011;26(Ek 2):241-51.
2. Alto WA. Human metapneumovirus: a newly described respiratory tract pathogen. J Am Board Fam Pract 2004;17:466-9.
3. T.C. Sağlık Bakanlığı. Sağlık İstatistikleri Yıllığı. 2016:28.
4. World Health Organization. Global Health Observatory (GHO) data. World Health Organization, 2016 (<http://apps.who.int/gho/data/view.main>).
5. Özer B, Babayiğit C, Çolak S, Önlen C, Çimen F, Boyacıgil İ ve ark. Alt solunum yolu örneklerinden izole edilen mikroorganizmalar ve antimikrobiyal direnç durumları. Mustafa Kemal Üniv Tıp Derg 2016;7(26):45-53.

6. Lidman C, Burman LG, Lagergren A, Ortvist A. Limited value of routine microbiological diagnostics in patients hospitalized for community-acquired pneumonia. *Scandinav J Infect Dis* 2002;34(12):873-9.
7. Curran T, Coyle PV, McManus TE, Kidney J, Coulter WA. Evaluation of real-time PCR for the detection and quantification of bacteria in chronic obstructive pulmonary disease. *FEMS Immunol Med Microbiol* 2007;50(1):112-8.
8. Kelly JT, Busse WW. Host immune responses to rhinovirus: mechanisms in asthma. *J Allergy Clin Immunol* 2008;122:671-82.
9. Bayram A, Kocoglu E, Balci I, Filiz A, Eksi F. Real-time polymerase chain reaction assay for detection of *Streptococcus pneumoniae* in sputum samples from patients with community acquired pneumonia. *J Microbiol Immunol Infect* 2006;39(6):452-7.
10. Stralin K, Tornqvist E, Kaltoft MS, Olcen P, Holmberg H. Etiologic diagnosis of adult bacterial pneumonia by culture and PCR applied to respiratory tract samples. *J Clin Microbiol* 2006;44(2):643-5.
11. Hacimustafaoğlu M. *Mycoplasma pneumoniae* enfeksiyonu rutin tanısı. *J Pediatr Inf* 2018;12(2):83-4.
12. Liam CK, Pang YK, Poosparajah S, Chua KT. Community-acquired pneumonia: an Asia Pacific perspective. *Respirology* 2007;12(2):162-4.
13. Song JH, Oh WS, Kang CI, Chung DR, Peck KR, Ko KS, et al. Epidemiology and clinical outcomes of community-acquired pneumonia in adult patients in Asian countries: a prospective study by the Asian network for surveillance of resistant pathogens. *Int J Antimicrob Agents* 2008;31(2):107-14.
14. Heininger U. *Pertussis and Other Bordetella Infections of the Respiratory Tract* Kendig's Disorders of the Respiratory Tract in Children. 9<sup>th</sup> ed. 2019:528-34.
15. Kurutepe S, Ecemiş T, Özgen A, Bıçmen C, Çelik P, Aktoğu Özkan S ve ark. Toplum kökenli pnömonisi olan erişkin hastalarda konvansiyonel ve multipleks PCR yöntemleriyle bakteriyel etiyolojinin araştırılması. *Mikrobiyol Bul* 2012;46(4):523-31.
16. Templeton KE, Scheltinga SA, van den Eeden WC, Grafelman AW, van den Broek PJ, Claas EC. Improved diagnosis of the etiology of community-acquired pneumonia with real-time polymerase chain reaction. *Clin Infect Dis* 2005;41(1):345-51.
17. Akın B, Tülek B, Arslan U, Sütçü L, Fındık D, Süerdem M. Kronik obstrüktif akciğer hastalığı alevlenmelerinde balgamda *Streptococcus pneumoniae*, *Haemophilus influenzae* ve *Moraxella catarrhalis*'in gerçek-zamanlı polimeraz zincir reaksiyonu tekniği ile kantitatif olarak saptanması. *Solunum Dergisi* 2011;13(1):32-40.
18. Mahony JB. Detection of respiratory viruses by molecular methods. *Clin Microbiol Rev* 2008;21:716-47.
19. Arslan A, Çiçek C, Saz EU, Gülen F, Soydaner H. Viral solunum yolu enfeksiyonlarının tanısında bir multipleks PCR yönteminin performansının değerlendirilmesi. *Türk Mikrobiyol Cem Derg* 2016;46(4):159-64.

#### Yazışma Adresi/Address for Correspondence

Uzm. Dr. Pınar ŞAMLIOĞLU

İzmir Tepecik Eğitim ve Araştırma Hastanesi,  
Mikrobiyoloji Laboratuvarı,  
İzmir-Türkiye

E-posta: pinar.samliloglu@saglik.gov.tr